

RÈGLEMENT D'EXÉCUTION (UE) 2022/893 DE LA COMMISSION**du 7 juin 2022****modifiant l'annexe VI du règlement (CE) n° 152/2009 en ce qui concerne les méthodes d'analyse applicables en matière de détection des constituants d'invertébrés terrestres pour le contrôle officiel des aliments pour animaux****(Texte présentant de l'intérêt pour l'EEE)**

LA COMMISSION EUROPÉENNE,

vu le traité sur le fonctionnement de l'Union européenne,

vu le règlement (UE) 2017/625 du Parlement européen et du Conseil du 15 mars 2017 concernant les contrôles officiels et les autres activités officielles servant à assurer le respect de la législation alimentaire et de la législation relative aux aliments pour animaux ainsi que des règles relatives à la santé et au bien-être des animaux, à la santé des végétaux et aux produits phytopharmaceutiques, modifiant les règlements du Parlement européen et du Conseil (CE) n° 999/2001, (CE) n° 396/2005, (CE) n° 1069/2009, (CE) n° 1107/2009, (UE) n° 1151/2012, (UE) n° 652/2014, (UE) 2016/429 et (UE) 2016/2031, les règlements du Conseil (CE) n° 1/2005 et (CE) n° 1099/2009 ainsi que les directives du Conseil 98/58/CE, 1999/74/CE, 2007/43/CE, 2008/119/CE et 2008/120/CE, et abrogeant les règlements du Parlement européen et du Conseil (CE) n° 854/2004 et (CE) n° 882/2004, les directives du Conseil 89/608/CEE, 89/662/CEE, 90/425/CEE, 91/496/CEE, 96/23/CE, 96/93/CE et 97/78/CE ainsi que la décision 92/438/CEE du Conseil (règlement sur les contrôles officiels) ⁽¹⁾, et notamment son article 34, paragraphe 6, premier alinéa, point a),

considérant ce qui suit:

- (1) Le règlement (CE) n° 152/2009 de la Commission ⁽²⁾ établit des méthodes d'essai à l'appui des contrôles officiels visant à faire respecter l'interdiction de l'utilisation de protéines animales transformées dans les aliments pour animaux destinés aux animaux producteurs de denrées alimentaires. Il s'agit notamment de méthodes d'analyse destinées à permettre l'identification des constituants d'origine animale pour le contrôle officiel des aliments pour animaux, méthodes qui sont décrites à l'annexe VI dudit règlement et consistent en une microscopie optique ou en une amplification en chaîne par polymérase (PCR).
- (2) L'utilisation de protéines animales transformées dérivées d'insectes d'élevage a été autorisée dans l'alimentation des animaux d'aquaculture par le règlement (UE) 2017/893 de la Commission ⁽³⁾ et dans l'alimentation des porcins et des volailles par le règlement (UE) 2021/1372 de la Commission ⁽⁴⁾, mais elle est toujours interdite en vertu du règlement (CE) n° 999/2001 du Parlement européen et du Conseil ⁽⁵⁾ dans certains aliments pour animaux, notamment dans l'alimentation des ruminants.
- (3) Le laboratoire de référence de l'Union européenne pour les protéines animales dans les aliments pour animaux a élaboré et validé un protocole spécial, comprenant une étape consistant en une double sédimentation, qui garantit la détection des particules d'invertébrés terrestres, y compris les insectes, si elles sont présentes dans les matières premières pour aliments des animaux, les aliments composés pour animaux et les prémélanges soumis à des essais en laboratoire. Avec cette étape supplémentaire, ce protocole devrait être utilisé dans le cadre des contrôles officiels afin de vérifier l'application correcte de l'interdiction de l'utilisation de protéines animales transformées d'insectes dans certains aliments pour animaux destinés aux animaux producteurs de denrées alimentaires.

⁽¹⁾ JO L 95 du 7.4.2017, p. 1.

⁽²⁾ Règlement (CE) n° 152/2009 de la Commission du 27 janvier 2009 portant fixation des méthodes d'échantillonnage et d'analyse destinées au contrôle officiel des aliments pour animaux (JO L 54 du 26.2.2009, p. 1).

⁽³⁾ Règlement (UE) 2017/893 de la Commission du 24 mai 2017 modifiant les annexes I et IV du règlement (CE) n° 999/2001 du Parlement européen et du Conseil et les annexes X, XIV et XV du règlement (UE) n° 142/2011 de la Commission concernant les dispositions relatives aux protéines animales transformées (JO L 138 du 25.5.2017, p. 92).

⁽⁴⁾ Règlement (UE) 2021/1372 de la Commission du 17 août 2021 modifiant l'annexe IV du règlement (CE) n° 999/2001 du Parlement européen et du Conseil en ce qui concerne l'interdiction de l'utilisation des protéines animales dans l'alimentation des animaux d'élevage non ruminants autres que les animaux à fourrure (JO L 295 du 18.8.2021, p. 1).

⁽⁵⁾ Règlement (CE) n° 999/2001 du Parlement européen et du Conseil du 22 mai 2001 fixant les règles pour la prévention, le contrôle et l'éradication de certaines encéphalopathies spongiformes transmissibles (JO L 147 du 31.5.2001, p. 1).

- (4) Il convient donc d'adapter la description de la méthode de la microscopie optique figurant à l'annexe VI du règlement (CE) n° 152/2009 afin d'y insérer une étape consistant en une double sédimentation dans le protocole de préparation des échantillons à tester pour la détection de constituants d'invertébrés terrestres.
- (5) Il convient dès lors de modifier l'annexe VI du règlement (CE) n° 152/2009 en conséquence.
- (6) Les mesures prévues dans le présent règlement sont conformes à l'avis du comité permanent des végétaux, des animaux, des denrées alimentaires et des aliments pour animaux,

A ADOPTÉ LE PRÉSENT RÈGLEMENT:

Article premier

L'annexe VI du règlement (CE) n° 152/2009 est modifiée conformément à l'annexe du présent règlement.

Article 2

Le présent règlement entre en vigueur le vingtième jour suivant celui de sa publication au *Journal officiel de l'Union européenne*.

Le présent règlement est obligatoire dans tous ses éléments et directement applicable dans tout État membre.

Fait à Bruxelles, le 7 juin 2022.

Par la Commission
La présidente
Ursula VON DER LEYEN

ANNEXE

L'annexe VI du règlement (CE) n° 152/2009 est modifiée comme suit:

1) Le point 1 est remplacé par le texte suivant:

«1. OBJET ET CHAMP D'APPLICATION

L'identification des constituants d'origine animale dans les aliments pour animaux doit être effectuée à l'aide de la microscopie optique ou d'une réaction d'amplification en chaîne par polymérase (PCR), conformément aux dispositions prévues dans la présente annexe.

Ces deux méthodes permettent de détecter la présence de constituants d'origine animale dans les prémélanges, dans les matières premières pour aliments des animaux et dans les aliments composés pour animaux. Toutefois, elles ne permettent pas de calculer la quantité de ces constituants dans les prémélanges, dans les matières premières pour aliments des animaux et dans les aliments composés pour animaux. La limite de détection des deux méthodes est inférieure à 0,1 % (p/p).

L'amplification en chaîne par polymérase permet d'identifier le groupe taxinomique des constituants d'origine animale présents dans les prémélanges, dans les matières premières pour aliments des animaux et dans les aliments composés pour animaux.

Ces méthodes s'appliquent au contrôle de l'application des interdictions prévues à l'article 7, paragraphe 1, du règlement (CE) n° 999/2001 du Parlement européen et du Conseil (*), à l'annexe IV dudit règlement et à l'article 11, paragraphe 1, du règlement (CE) n° 1069/2009 du Parlement européen et du Conseil (**).

En fonction du type d'aliment pour animaux soumis aux essais, ces méthodes peuvent être utilisées, suivant un protocole opérationnel unique, individuellement ou conjointement conformément aux modes opératoires normalisés (MON) établis par le laboratoire de référence de l'Union européenne pour la détection de protéines animales dans les aliments pour animaux (EURL-AP) et publiées sur son site web (**).

(*) Règlement (CE) n° 999/2001 du Parlement européen et du Conseil du 22 mai 2001 fixant les règles pour la prévention, le contrôle et l'éradication de certaines encéphalopathies spongiformes transmissibles (JO L 147 du 31.5.2001, p. 1).

(**) Règlement (CE) n° 1069/2009 du Parlement européen et du Conseil du 21 octobre 2009 établissant des règles sanitaires applicables aux sous-produits animaux et produits dérivés non destinés à la consommation humaine et abrogeant le règlement (CE) n° 1774/2002 (règlement relatif aux sous-produits animaux) (JO L 300 du 14.11.2009, p. 1).

(***) <https://www.eurl.craw.eu/legal-sources-and-sops/method-of-reference-and-sops/>.

2) Le point 2.1 est remplacé par le texte suivant:

«2.1. **Microscopie optique**

2.1.1. *Principe*

Les constituants d'origine animale susceptibles d'être présents dans les prémélanges, dans les matières premières pour aliments des animaux et dans les aliments composés pour animaux envoyés pour analyse sont identifiés sur la base de caractéristiques typiques et identifiables au microscope, telles que les fibres musculaires et autres particules de viande, les cartilages, les os, la corne, les poils, les soies, les fragments de cuticules d'invertébrés, les structures trachéales d'insectes, les produits sanguins, les globules de lait, les cristaux de lactose, les plumes, les coquilles d'œuf, les arêtes et les écailles de poisson.

Les examens microscopiques sont effectués après la préparation des échantillons par sédimentation.

Les échantillons sont soumis à une étape de sédimentation de la manière suivante:

- a) pour la détection des constituants d'origine animale provenant d'animaux autres que les invertébrés terrestres, une étape de sédimentation unique dans du tétrachloréthylène (TCE), comme indiqué au point 2.1.3.4.3;
- b) pour la détection des constituants d'invertébrés terrestres, une étape de double sédimentation dans de l'éther de pétrole et du tétrachloréthylène (EP/TCE), comme indiqué au point 2.1.3.4.4.

2.1.2. *Réactifs et appareillage*

2.1.2.1. Réactifs

2.1.2.1.1. Agent de concentration

- Tétrachloréthylène (densité relative 1,62).
- Éther de pétrole (EP) point d'ébullition: 40-60 °C (densité relative: 0,65).

2.1.2.1.2. Réactif de coloration

- Solution de rouge d'alizarine (diluer 2,5 ml d'acide chlorhydrique 1 M dans 100 ml d'eau et ajouter 200 mg de rouge d'alizarine à cette solution).

2.1.2.1.3. Milieux de montage

- Lessive de soude et de potasse (NaOH à 2,5 % p/v ou KOH à 2,5 % p/v).
- Glycérol (non dilué, viscosité: 1 490 cP) ou un milieu de montage ayant des propriétés équivalentes pour la préparation de lames non permanentes.
- Norland® Adhésive optique 65 (viscosité: 1 200 cP) ou un milieu de montage ayant des propriétés équivalentes pour la préparation de lames non permanentes.

2.1.2.1.4. Milieux de montage avec propriétés de coloration

- Solution de lugol (dissoudre 2 g d'iodure de potassium dans 100 ml d'eau et ajouter 1 g d'iode en agitant fréquemment).
- Réactif cystinique (2 g d'acétate de plomb, 10 g NaOH/100 ml d'eau).
- Liqueur de Fehling [préparée avant l'utilisation à partir de parts égales (1/1) de deux solutions-mères A et B. Solution A: dissoudre 6,9 g de sulfate de cuivre (II) pentahydraté dans 100 ml d'eau. Solution B: dissoudre 34,6 g de tartrate double de sodium et de potassium tétrahydraté et 12 g de NaOH dans 100 ml d'eau].
- Tétraméthylbenzidine/péroxyde d'hydrogène [dissoudre 1 g de 3,3', 5,5' tétraméthylbenzidine (TMB) dans 100 ml d'acide acétique glacial et 150 ml d'eau. Avant l'utilisation, mélanger 4 parts de cette solution de TMB avec 1 part de peroxyde d'hydrogène à 3 %].

2.1.2.1.5. Agents de rinçage

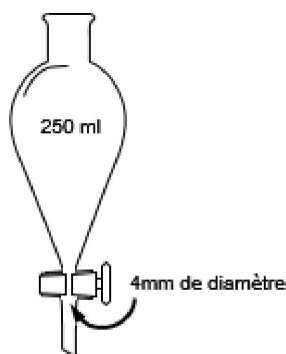
- Éthanol ≥ 96 % (qualité technique).
- Acétone (qualité technique).

2.1.2.1.6. Réactif de blanchiment

- Solution commerciale d'hypochlorite de sodium (9-14 % de chlore actif).

2.1.2.2. Appareillage

- Balance de précision à 0,001 g.
- Équipement de broyage: broyeur à couteaux ou à rotors. Si un broyeur à rotors est utilisé, les tamis pour broyeur $\leq 0,5$ mm sont interdits.
- Tamis à mailles carrées de 0,25 mm et 1 mm de largeur. À l'exception du prétaillage des échantillons, le diamètre des tamis ne doit pas dépasser 10 cm pour éviter la perte de matières. L'étalonnage des tamis n'est pas requis.
- Ampoule à décanner conique en verre d'une capacité de 250 ml munie d'un robinet en téflon ou en verre rodé à la base du cône. Le diamètre de l'ouverture du robinet doit être supérieur ou égal à 4 mm. Pour la sédimentation unique TCE uniquement, un bécher de décantation à fond conique peut également être utilisé, à condition que le laboratoire ait démontré que les niveaux de détection sont équivalents à ceux obtenus en utilisant l'ampoule à décanner conique en verre.



Ampoule à décanner

- Microscope stéréoscopique couvrant une plage de grossissement final allant de 6,5 à 40 fois au minimum.
- Microscope composé à fond clair par éclairage à transmission couvrant une plage de grossissement final allant de 100 à 400 fois au minimum. Un microscope en lumière polarisée, à contraste interférentiel différentiel peut également être utilisé.
- Verrerie courante de laboratoire.
- Matériel pour la préparation sur lame: lames de microscope classiques, lames creuses, lamelles (20 × 20 mm), brucelles, spatule fine.
- Étuve de laboratoire.
- Centrifugeuse.
- Papier filtre: filtre qualitatif en cellulose (taille des pores: 4-11 µm).

2.1.3. *Échantillonnage et préparation des échantillons*

2.1.3.1. Échantillonnage

Utiliser un échantillon représentatif prélevé conformément à l'annexe I.

2.1.3.1.1. Dessiccation des échantillons

Les échantillons présentant une teneur en humidité supérieure à 14 % doivent être desséchés avant le traitement conformément à l'annexe III.

2.1.3.1.2. Prétamissage des échantillons

Afin de recueillir des informations sur une éventuelle contamination de l'environnement des aliments pour animaux, il est recommandé de prétamiser les aliments pour animaux en granulés et les bouchons à l'aide d'un tamis à mailles de 1 mm, puis de préparer et d'analyser les deux fractions obtenues et d'en rendre compte séparément, car elles doivent être considérées comme deux échantillons distincts.

2.1.3.2. Précautions à prendre

Afin d'éviter une contamination croisée en laboratoire, tous les équipements recyclables doivent être soigneusement nettoyés avant l'emploi. Les éléments de l'ampoule à décanter doivent être démontés avant le nettoyage. Les éléments de l'ampoule à décanter et la verrerie doivent être prélavés manuellement puis lavés en machine. Les tamis doivent être nettoyés à l'aide d'une brosse à poils synthétiques durs. Un dernier nettoyage des tamis avec de l'acétone et de l'air comprimé est recommandé après le tamisage de matières grasses telles que des farines de poisson.

2.1.3.3. Préparation des échantillons constitués de matières grasses ou d'huiles

Le protocole suivant doit être respecté pour la préparation des échantillons constitués de matières grasses:

- S'il s'agit de graisse solide, chauffer celle-ci dans un four jusqu'à ce qu'elle devienne liquide.
- Au moyen d'une pipette, transvaser 40 ml de graisse du fond de l'échantillon dans un tube de centrifugation.
- L'échantillon doit être centrifugé pendant 10 minutes à 4 000 tours/min.
- Si la graisse s'est solidifiée pendant la centrifugation, la réchauffer au four jusqu'à ce qu'elle redevienne liquide.
- La centrifugation doit être répétée pendant 5 minutes à 4 000 tours/min.
- À l'aide d'une petite cuillère ou d'une spatule, transvaser une moitié des impuretés obtenues sur des lames microscopiques pour examen. Il est recommandé d'utiliser du glycérol comme milieu de montage.
- Utiliser les impuretés restantes pour la préparation du résidu, comme décrit au point 2.1.3.4.3, premier tiret.

Le même protocole, à l'exception des premier et quatrième tirets, doit être appliqué à la préparation des échantillons constitués d'huile.

2.1.3.4. Préparation des échantillons autres que les matières grasses ou les huiles

2.1.3.4.1. Sous-échantillonnage et broyage: au moins 50 g de l'échantillon doivent être séparés en sous-échantillons destinés à être analysés puis broyés.

2.1.3.4.2. Préparation des matières premières: une portion d'au moins 5 g du sous-échantillon broyé doit être préparée. Elle est tamisée à 0,25 mm et les deux fractions qui en résultent sont examinées.

2.1.3.4.3. Sédimentation unique TCE pour la détection de constituants d'origine animale provenant d'animaux autres que les invertébrés terrestres.

— Extraction et préparation du résidu:

Transvaser une portion de 10 g (exactitude de 0,01 g) du sous-échantillon broyé dans l'ampoule à décanter ou le bécher de décantation à fond conique et ajouter 50 ml de tétrachloréthylène. La portion transvasée dans l'ampoule est limitée à 3 g dans le cas des farines de poissons ou d'autres produits d'origine animale purs, d'ingrédients minéraux ou de prémélanges générant plus de 10 % de résidu. Agiter vigoureusement le mélange pendant au moins 30 secondes et ajouter avec précaution 50 ml de tétrachloréthylène en lavant la surface intérieure de l'ampoule pour éliminer les particules adhérentes. Laisser le mélange obtenu se décanter pendant au moins 5 minutes avant de séparer le résidu en ouvrant le robinet.

Si un bécher de décantation à fond conique est utilisé, agiter vigoureusement le mélange pendant au moins 15 secondes et laver soigneusement la surface intérieure avec au moins 10 ml de tétrachloréthylène propre pour éliminer les particules adhérant aux parois du bécher. Laisser le mélange se décanter pendant 3 minutes et agiter à nouveau pendant 15 secondes puis laver soigneusement la surface intérieure avec au moins 10 ml de tétrachloréthylène propre pour éliminer les particules adhérant aux parois du bécher. Laisser le mélange obtenu se décanter pendant au moins 5 minutes puis retirer la fraction liquide, l'éliminer en la laissant soigneusement se décanter et en prenant soin de ne rien perdre du résidu.

Le résidu doit être recueilli sur du papier-filtre placé dans un entonnoir afin de permettre la séparation du tétrachloréthylène restant tout en évitant le dépôt de matières grasses dans le résidu. Le résidu doit être séché. Il est recommandé de peser ensuite le résidu (avec une exactitude de 0,001 g) pour contrôler l'étape de sédimentation. Enfin, le résidu doit être passé à travers un tamis à mailles de 0,25 mm et les deux fractions obtenues doivent être examinées, sauf si le tamisage n'est pas jugé nécessaire.

— Extraction et préparation des matières flottantes:

Après récupération du résidu au moyen de la méthode décrite ci-dessus, deux phases restent dans l'ampoule à décanter: une phase liquide constituée de tétrachloréthylène et une phase solide constituée de matières flottantes. Cette phase solide (les matières flottantes) est récupérée par le versement complet du tétrachloréthylène hors de l'ampoule en ouvrant le robinet. L'ampoule à décanter doit être retournée, et les matières flottantes doivent être transvasées dans une grande boîte de Pétri et séchées à l'air dans une hotte de laboratoire. Elle est tamisée à 0,25 mm et les deux fractions qui en résultent sont examinées.

— Utilisation de réactifs de coloration

Pour faciliter l'identification correcte des constituants d'origine animale, l'opérateur peut utiliser des réactifs de coloration au cours de la préparation de l'échantillon, conformément aux orientations formulées par le laboratoire de référence de l'Union européenne pour la détection de protéines animales dans les aliments pour animaux et publiées sur son site web.

Si la solution de rouge d'alizarine est utilisée pour la coloration du résidu, le protocole suivant doit être appliqué:

- Transvaser le résidu séché dans une éprouvette en verre et le rincer deux fois avec environ 5 ml d'éthanol (agiter chaque fois au vortex pendant 30 secondes, laisser le solvant se décanter pendant environ 1 minute 30 secondes puis l'éliminer).
- Blanchir le résidu avec au moins 1 ml de solution d'hypochlorite de sodium. Laisser réagir pendant 10 minutes; remplir l'éprouvette d'eau, laisser le résidu se décanter pendant 2 à 3 minutes puis éliminer doucement l'eau et les particules en suspension.
- Rincer deux fois le résidu avec environ 10 ml d'eau (agiter au vortex pendant 30 secondes, laisser se décanter et, chaque fois, éliminer l'eau).
- Ajouter 2 à 10 gouttes de solution de rouge d'alizarine et agiter le mélange au vortex. Laisser réagir pendant 30 secondes et rincer deux fois le résidu coloré avec environ 5 ml d'éthanol, puis une nouvelle fois avec de l'acétone (agiter chaque fois au vortex pendant 30 secondes, laisser le solvant se décanter environ une minute puis l'éliminer).
- Sécher le résidu coloré.

2.1.3.4.4. Double sédimentation EP/TCE pour la détection de constituants d'invertébrés terrestres.

Toutes les étapes doivent être réalisées dans une ampoule à décanter conique en verre de 250 ml, comme décrit au point 2.1.2.2, quatrième tiret.

- Une portion de 10 g (précision à 0,01 g) du sous-échantillon broyé est transférée dans l'ampoule à décanter et soumise d'abord à une sédimentation unique TCE, comme décrit au point 2.1.3.4.3, avec récupération du résidu sur un papier-filtre placé sur un entonnoir. Ce résidu peut être utilisé comme indiqué au point 2.1.3.4.3.
- Le petit volume de TCE qui s'est écoulé avec le résidu doit être transféré dans une éprouvette graduée. En ouvrant le robinet de l'ampoule à décanter, remplir l'éprouvette graduée jusqu'à obtention de 30 ml de TCE. Une fois ce volume atteint, le robinet d'arrêt est fermé.
- Ce volume de TCE collecté est remplacé en ajoutant un volume de 30 ml d'éther de pétrole dont le point d'ébullition est compris entre 40 °C et 60 °C dans l'ampoule à décanter. Le contenu de l'ampoule à décanter doit être soigneusement mélangé pour obtenir un mélange 30 % EP/70 % TCE (avec une densité d'environ 1,26 g.cm⁻³). Laisser reposer la matière pendant 10 min. Deux nouvelles fractions se formeront: un deuxième résidu et les matières flottantes finales (< 1,26 g.cm⁻³). Le deuxième résidu doit être récupéré dans une boîte de Petri (ou un papier-filtre placé sur un entonnoir) en ouvrant le robinet jusqu'à ce que seul un peu de mélange des solvants et les matières flottantes finales restent dans l'ampoule à décanter. Le liquide restant et les matières flottantes finales sont collectés séparément sur un papier-filtre placé sur un entonnoir. La paroi de l'ampoule à décanter doit être rincée avec de l'éther de pétrole afin de recueillir toutes les matières flottantes finales. On laisse sécher les matières flottantes finales. Enfin, les matières flottantes finales doivent être passées à travers un tamis à mailles de 0,25 mm et les deux fractions obtenues doivent être examinées aux fins de la détection de constituants d'invertébrés terrestres, sauf si le tamisage n'est pas jugé nécessaire.

2.1.4. Examen microscopique

2.1.4.1. Préparation des lames

Les lames microscopiques sont préparées à partir du résidu et, selon le choix de l'opérateur, à partir des matières flottantes ou de la matière première. Le cas échéant, pour la détection des constituants d'invertébrés terrestres uniquement, des lames doivent également être préparées à partir des matières flottantes finales obtenues conformément au point 2.1.3.4.4. Les deux fractions obtenues (la fine et la grossière) doivent être préparées. Les prises d'essai des fractions étalées sur les lames doivent être représentatives de la fraction entière.

Un nombre suffisant de lames doit être préparé afin de garantir la réalisation d'un protocole d'examen complet, tel que prévu au point 2.1.4.2.

Les lames microscopiques doivent être montées avec le milieu de montage adéquat, conformément au MON établi par l'EURL-AP et publié sur son site web. Elles sont recouvertes de lamelles.

2.1.4.2. Protocoles d'observation pour la détection de particules animales dans les aliments composés pour animaux, les matières premières pour aliments des animaux et les prémélanges

Les lames microscopiques préparées doivent être observées conformément aux protocoles d'observation établis dans les schémas 1 et 2.

Le résidu et, selon le choix de l'opérateur, les matières flottantes ou la matière première doivent être observés au microscope composé. En outre, pour la détection des constituants d'invertébrés terrestres, les matières flottantes finales obtenues conformément au point 2.1.3.4.4 doivent être observées conformément au schéma 3. Les fractions grossières peuvent en outre être examinées au microscope stéréoscopique. Chaque lame doit être observée entièrement à différents grossissements. Des explications précises sur la manière d'utiliser les protocoles sont détaillées dans un mode opératoire normalisé (MON) établi par l'EURL-AP et publié sur son site web.

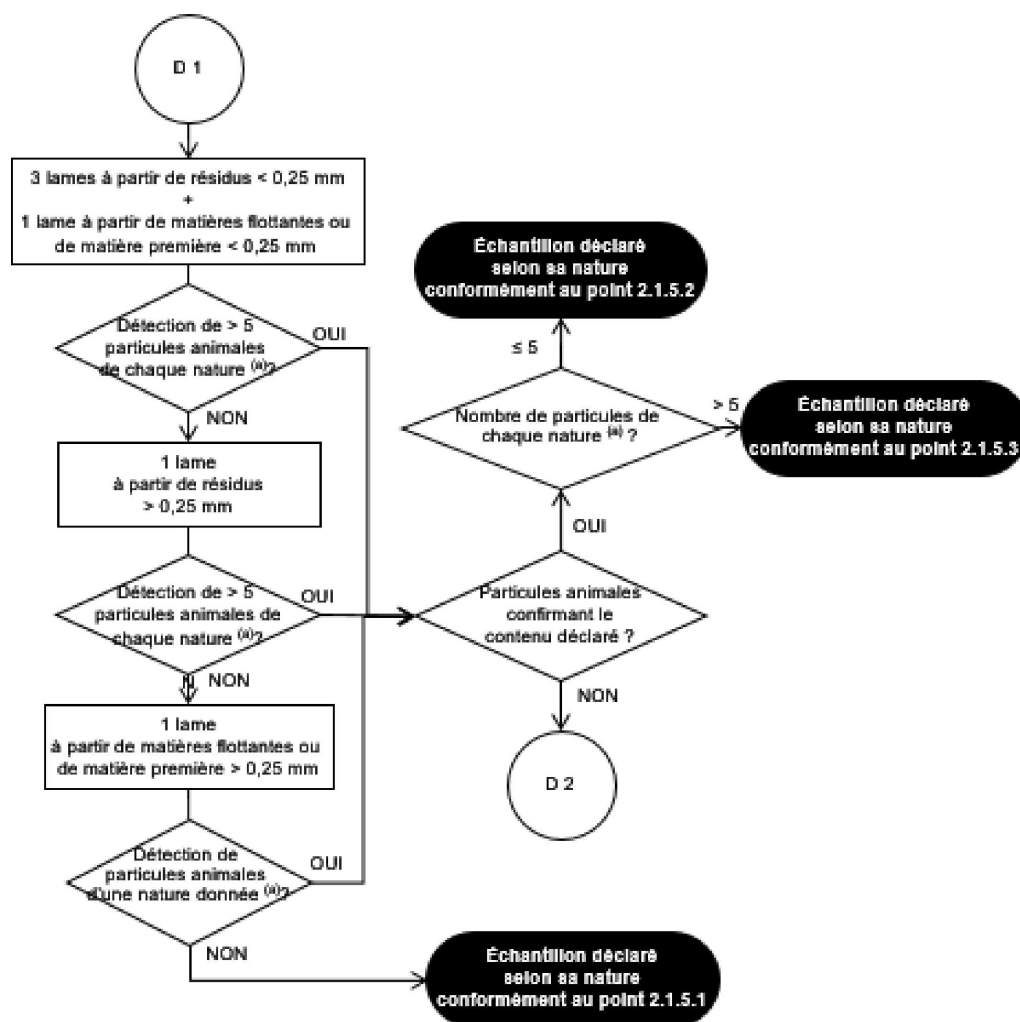
Le nombre minimal de lames à observer à chaque étape des protocoles d'observation doit être strictement respecté, à moins que l'ensemble des matières de la fraction ne permette pas d'atteindre le nombre de lames prescrit, par exemple lorsque aucun résidu n'est obtenu. Il ne peut pas être utilisé plus de 6 lames par détermination pour l'enregistrement du nombre de particules.

Lorsque des lames supplémentaires sont préparées avec un milieu de montage plus spécifique ayant des propriétés de coloration, comme indiqué au point 2.1.2.1.4, pour les matières flottantes ou la matière première afin de caractériser davantage les structures (par ex. plumes, poils, particules musculaires ou sanguines) qui ont été détectées sur des lames préparées avec d'autres milieux de montage, comme indiqué au point 2.1.2.1.3, le nombre de particules doit être compté sur la base d'un nombre de lames par détermination ne dépassant pas 6, les lames supplémentaires avec un milieu de montage plus spécifique étant comprises dans ce nombre. Les lames supplémentaires préparées à partir des matières flottantes finales obtenues, comme indiqué au point 2.1.3.4.4, pour la détection des constituants d'invertébrés terrestres ne sont pas prises en considération pour l'identification d'autres natures (vertébrés terrestres et poissons).

Afin de déterminer plus facilement la nature et l'origine des particules, l'opérateur peut utiliser des outils d'aide tels que des systèmes d'aide à la décision, des bibliothèques d'images et des échantillons de référence.

Schéma 1

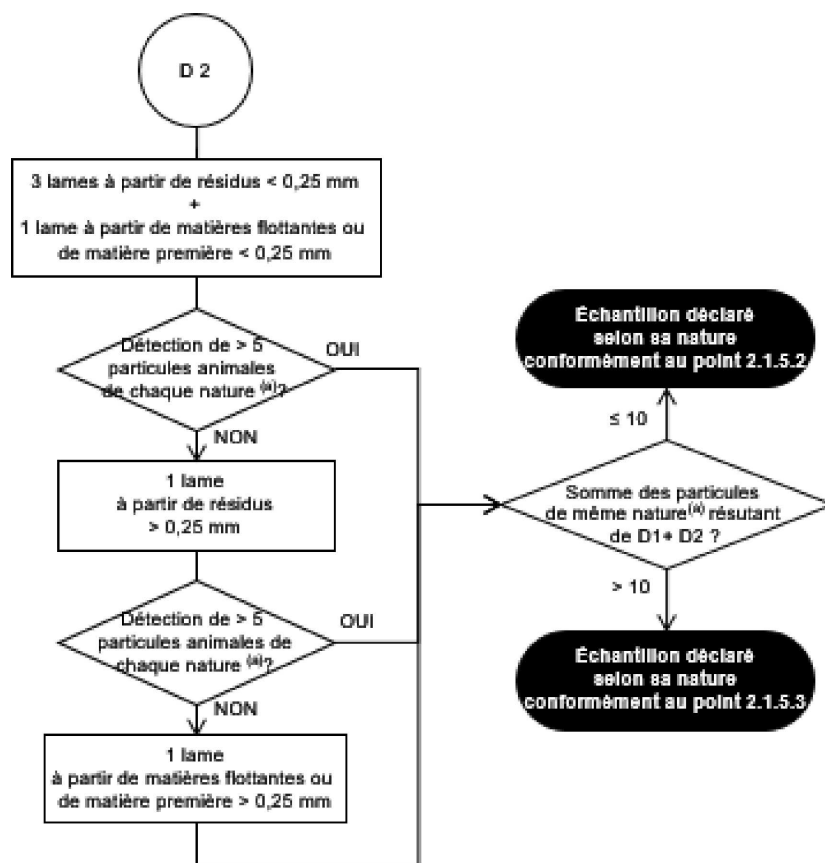
Protocole d'observation après sédimentation unique TCE pour la détection de particules d'animaux autres que les invertébrés terrestres dans les aliments composés pour animaux, les matières premières pour aliments des animaux et les prémélanges aux fins de la première détermination



[«D1» et «D2» renvoient respectivement à la première et à la seconde détermination;
(a): vertébrés terrestres, poissons]

Schéma 2

Protocole d'observation après sédimentation unique TCE pour la détection de particules d'animaux autres que les invertébrés terrestres dans les aliments composés pour animaux, les matières premières pour aliments des animaux et les prémélanges aux fins de la seconde détermination

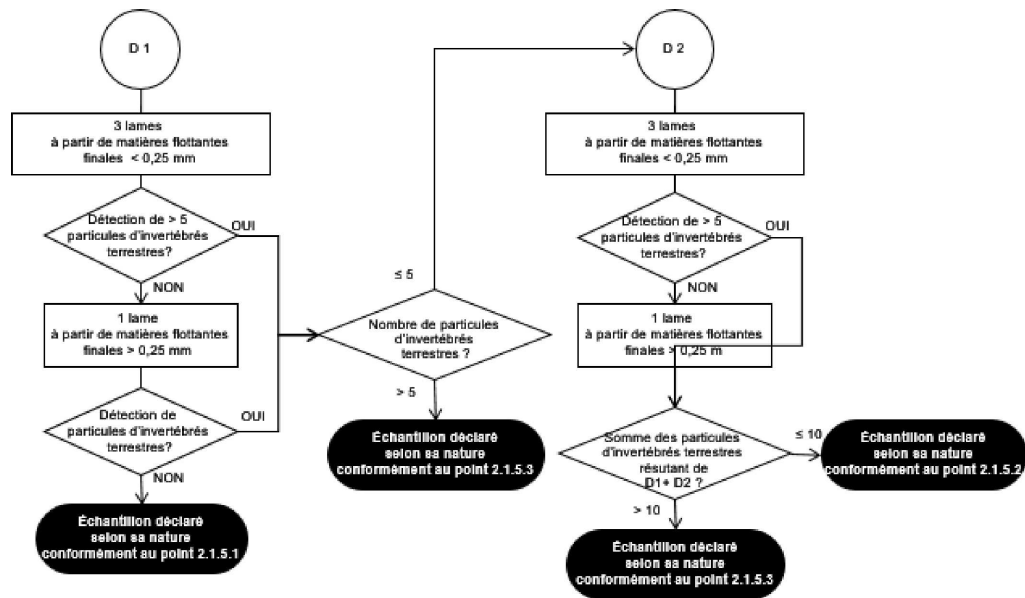


[«D1» et «D2» renvoient respectivement à la première et à la seconde détermination;

(a): vertébrés terrestres, poissons]

Schéma 3

Protocole d'observation après double sédimentation EP/TCE pour la détection de constituants d'invertébrés terrestres dans les aliments composés pour animaux, les matières premières pour aliments des animaux et les prémélanges



(«D1» et «D2» renvoient respectivement à la première et à la seconde détermination)

2.1.4.3. Nombre de déterminations

Les déterminations doivent être effectuées sur différents sous-échantillons de 50 g chacun.

Si, à l'issue de la première détermination effectuée conformément au protocole d'observation établi dans le schéma 1, ou le schéma 3 selon le cas, aucune particule animale n'est détectée, il n'est pas nécessaire de procéder à une détermination supplémentaire, et le résultat de l'analyse doit être rapporté selon les libellés prévus au point 2.1.5.1.

Si, à l'issue de la première détermination effectuée conformément au protocole d'observation établi dans le schéma 1, une ou plusieurs particules animales d'une nature donnée (c'est-à-dire provenant d'un vertébré terrestre ou d'un poisson) sont détectées et si la nature de la ou des particules mises en évidence confirme le contenu déclaré de l'échantillon, il n'est pas nécessaire de procéder à une seconde détermination. Si le nombre de particules animales d'une nature donnée détectées au cours de cette première détermination est supérieur à 5, le résultat de l'analyse doit être rapporté par nature de l'animal selon les libellés prévus au point 2.1.5.3. Dans le cas contraire, le résultat de l'analyse doit être rapporté par nature de l'animal selon les libellés prévus au point 2.1.5.2.

Si, à l'issue de la première détermination effectuée conformément au protocole d'observation établi dans le schéma 3, plus de 5 particules d'invertébrés terrestres sont détectées, il n'est pas nécessaire de procéder à une seconde détermination, et le résultat de l'analyse doit être rapporté selon les libellés prévus au point 2.1.5.3 pour cette nature.

Dans tous les autres cas, y compris lorsque aucune déclaration du contenu n'a été fournie au laboratoire, une seconde détermination doit être effectuée à partir d'un nouveau sous-échantillon. Si, à l'issue de la deuxième détermination effectuée conformément au protocole d'observation établi dans le schéma 2, ou le schéma 3 selon le cas, la somme des particules animales d'une nature donnée détectées sur l'ensemble des deux déterminations est supérieure à 10, le résultat de l'analyse doit être rapporté par nature de l'animal selon les libellés prévus au point 2.1.5.3. Dans le cas contraire, le résultat de l'analyse doit être rapporté par nature de l'animal selon les libellés prévus au point 2.1.5.2.

2.1.5. Expression des résultats

Lorsqu'il rapporte les résultats, le laboratoire doit indiquer le type de matière sur lequel l'analyse a porté (résidu, matières flottantes, matières flottantes finales ou matière première). Le rapport doit indiquer clairement le nombre de déterminations qui ont été effectuées et si le tamisage des fractions avant la préparation des lames, conformément au point 2.1.3.4.3., premier tiret, troisième alinéa, ou au point 2.1.3.4.4, troisième tiret, n'a pas été effectué.

Le rapport du laboratoire doit contenir au minimum des informations concernant la présence de constituants dérivés de vertébrés terrestres et de poissons.

Les différents cas doivent être présentés de la façon suivante:

2.1.5.1. Aucune particule animale d'une nature donnée n'a été détectée:

- "L'échantillon soumis à l'analyse ne contient aucune particule dérivée de vertébrés terrestres détectable au microscope optique."
- "L'échantillon soumis à l'analyse ne contient aucune particule dérivée de poisson détectable au microscope optique."
- "L'échantillon soumis à l'analyse ne contient aucune particule dérivée d'invertébrés terrestres détectable au microscope optique."

2.1.5.2. Entre 1 et 5 particules animales d'une nature donnée ont été détectées alors qu'une seule détermination a été effectuée, ou entre 1 et 10 particules d'une nature donnée ont été détectées à la suite de deux déterminations [le nombre de particules détectées est inférieur à la limite de décision fixée dans le MON de l'EURL-AP et publiée sur son site web]:

Lorsqu'une seule détermination a été effectuée:

- "L'échantillon soumis à l'analyse ne contient pas plus de 5 particules dérivées de vertébrés terrestres détectables au microscope optique. Les particules ont été identifiées comme étant... [de l'os, du cartilage, du muscle, des poils, de la corne, autre chose (préciser de quoi il s'agit)]. Cette présence faible est inférieure à la limite de décision fixée pour cette méthode d'examen au microscope."
- "L'échantillon soumis à l'analyse ne contient pas plus de 5 particules dérivées de poisson détectables au microscope optique. Les particules ont été identifiées comme étant... [des arêtes, des écailles de poisson, du cartilage, du muscle, des otolithes, des branchies, autre chose (préciser de quoi il s'agit)]. Cette présence faible est inférieure à la limite de décision fixée pour cette méthode d'examen au microscope."

Lorsque deux déterminations ont été effectuées:

- "L'échantillon soumis à l'analyse dans le cadre de deux déterminations ne contient pas plus de 10 particules dérivées de vertébrés terrestres détectables au microscope optique. Les particules ont été identifiées comme étant... [de l'os, du cartilage, du muscle, des poils, de la corne, autre chose (préciser de quoi il s'agit)]. Cette présence faible est inférieure à la limite de décision fixée pour cette méthode d'examen au microscope."
- "L'échantillon soumis à l'analyse dans le cadre de deux déterminations ne contient pas plus de 10 particules dérivées de poisson détectables au microscope optique. Les particules ont été identifiées comme étant... [des arêtes, des écailles de poisson, du cartilage, du muscle, des otolithes, des branchies, autre chose (préciser de quoi il s'agit)]. Cette présence faible est inférieure à la limite de décision fixée pour cette méthode d'examen au microscope."
- "L'échantillon soumis à l'analyse dans le cadre de deux déterminations ne contient pas plus de 10 particules dérivées d'invertébrés terrestres détectables au microscope optique. Les particules ont été identifiées comme étant... [des fragments de cuticules, des parties de bouche, du muscle, des structures trachéales, autre chose (préciser de quoi il s'agit)]. Cette présence faible est inférieure à la limite de décision fixée pour cette méthode d'examen au microscope."

Par ailleurs:

- En cas de pré-tamassage de l'échantillon, le rapport de laboratoire doit mentionner la fraction (fraction tamisée, fraction de granulés ou de bouchons) dans laquelle les particules animales ont été détectées, dans la mesure où seule la détection de particules animales dans la fraction tamisée peut être le signe d'une contamination de l'environnement.

- Lorsque seules sont détectées des particules animales qui ne peuvent pas être classées comme provenant de vertébrés terrestres ou de poissons (par exemple, des fibres musculaires), le rapport doit indiquer que seules de telles particules animales ont été détectées et qu'il ne peut être exclu qu'elles proviennent de vertébrés terrestres.

2.1.5.3. Plus de 5 particules animales d'une nature donnée ont été détectées alors qu'une seule détermination a été effectuée, ou plus de 10 particules d'une nature donnée ont été détectées à la suite de deux déterminations:

Lorsqu'une seule détermination a été effectuée:

- "L'échantillon soumis à l'analyse contient plus de 5 particules dérivées de vertébrés terrestres détectables au microscope optique. Les particules ont été identifiées comme étant... [de l'os, du cartilage, du muscle, des poils, de la corne, autre chose (préciser de quoi il s'agit)]."
- "L'échantillon soumis à l'analyse contient plus de 5 particules dérivées de poisson détectables au microscope optique. Les particules ont été identifiées comme étant... [des arêtes, des écailles de poisson, du cartilage, du muscle, des otolithes, des branchies, autre chose (préciser de quoi il s'agit)]."
- "L'échantillon soumis à l'analyse contient plus de 5 particules dérivées d'invertébrés terrestres détectables au microscope optique. Les particules ont été identifiées comme étant... [des fragments de cuticules, des parties de bouche, du muscle, des structures trachéales, autre chose (préciser de quoi il s'agit)]."

Lorsque deux déterminations ont été effectuées:

- "L'échantillon soumis à l'analyse dans le cadre de deux déterminations contient plus de 10 particules dérivées de vertébrés terrestres détectables au microscope optique. Les particules ont été identifiées comme étant... [de l'os, du cartilage, du muscle, des poils, de la corne, autre chose (préciser de quoi il s'agit)]."
- "L'échantillon soumis à l'analyse dans le cadre de deux déterminations contient plus de 10 particules dérivées de poisson détectables au microscope optique. Les particules ont été identifiées comme étant... [des arêtes, des écailles de poisson, du cartilage, du muscle, des otolithes, des branchies, autre chose (préciser de quoi il s'agit)]."
- "L'échantillon soumis à l'analyse dans le cadre de deux déterminations contient plus de 10 particules dérivées d'invertébrés terrestres détectables au microscope optique. Les particules ont été identifiées comme étant... [des fragments de cuticules, des parties de bouche, du muscle, des structures trachéales, autre chose (préciser de quoi il s'agit)]."

Par ailleurs:

- En cas de prètamisage de l'échantillon, le rapport de laboratoire doit mentionner la fraction (fraction tamisée, fraction de granulés ou de bouchons) dans laquelle les particules animales ont été détectées, dans la mesure où seule la détection de particules animales dans la fraction tamisée peut être le signe d'une contamination de l'environnement.
 - Lorsque seules sont détectées des particules animales qui ne peuvent pas être classées comme provenant de vertébrés terrestres ou de poissons (par exemple, des fibres musculaires), le rapport doit indiquer que seules de telles particules animales ont été détectées et qu'il ne peut être exclu qu'elles proviennent de vertébrés terrestres.»
-